

**ÜBER DIE WIRKUNG VON SÄUGETIER-
ORGANEXTRAKTEN VERSCHIEDENER
MOLEKULARGEWICHTSBEREICHE AUF DAS
LEUKOZYTÄRE BLUTBILD VON MÄUSEN**

Irmgard Penkert

1974

Aus dem Lehrstuhl für Innere Medizin (Hämatologie)

der Universität München

und

dem Institut für Hämatologie der GSF

Assoziation mit EURATOM, München

(Vorstand: Prof. Dr. W. Stich)

ÜBER DIE WIRKUNG VON SÄUGETIERORGANEXTRAKTEN VERSCHIE-
DENER MOLEKULARGEWICHTSBEREICHE AUF DAS LEUKOZYTÄRE
BLUTBILD VON MÄUSEN.

In a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der Doktorwürde der gesamten Medizin

verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

I r m g a r d P e n k e r t

aus Landshut

München 1972



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. W. STICH
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. N. ZÖLLNER
Dekan:	Prof. Dr. W. SPANN
Tag der mündlichen Prüfung:	22. Januar 1974

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung und Fragestellung

II. Material und Methodik

1. Präparation niedermolekularer Serum- und Organextrakte
2. Präparation höhermolekularer Serum- und Organextrakte
3. Fraktionierung höhermolekularer Serum- und Organextrakte
4. Tierversuche

III. Ergebnisse

1. Wirkung niedermolekularer Serum- und Milzextrakte verschiedener Tiere
2. Wirkung niedermolekularer Organextrakte von Kälbern
3. Wirkung höhermolekularer Organextrakte von Kälbern
4. Wirkung höhermolekularer Serum- und Organfraktionen von Kälbern

IV. Diskussion

V. Zusammenfassung

VI. Schrifttumverzeichnis



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551921_0035

I. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Die Fragen nach den Funktionen und der Entbehrlichkeit der Milz bei Säugetieren ziehen sich durch die ganze Geschichte dieses Organes. Zwar hatte man sehr früh erkannt, daß beim Menschen der Verlust der Milz ohne schwere Funktionsausfälle vom Organismus toleriert würde, jedoch waren die Bemühungen um Erkenntnis der lienalen Aufgaben bis zu Beginn der naturwissenschaftlich ausgerichteten Forschungsperiode wenig ergiebig.

Zweifellos ist die Erforschung der Funktionen eines Organes ohne vitale Bedeutung wesentlich schwieriger als die Bestimmung der Aufgaben eines lebenswichtigen Organes. Erschwerend kommt bei der Milz hinzu, daß auf der einen Seite die Entfernung aus experimentellen Gründen beim Gesunden nicht möglich ist, andererseits aber die Veränderungen, die sich aus der Herausnahme einer pathologisch vergrößerten Milz ergeben, keine zuverlässigen Rückschlüsse auf eine normale Milzfunktion gestatten.

Wegen der teils beträchtlichen anatomischen Unterschiede zwischen der Milz verschiedener Tiere und der menschlichen Milz (Speichertyp und lymphatischer Typ) können ferner die Ergebnisse von Tierversuchen nicht ohne weiteres auf menschliche Verhältnisse übertragen werden (19). Die bisherigen Forschungsergebnisse führten zu der Vorstellung, daß in der Milz, ihren vielfältigen Funktionen nach, mehrere Organsysteme vereint wären. Nur aus dieser Sicht lassen sich die verschiedenen pathologischen Erscheinungsbilder hämatologischer Erkrankungen mit Milzbeteiligung verstehen (7, 13, 20, 25, 30).

Ein schon lange aktuelles und noch nicht restlos gelöstes Problem tritt bezüglich der Wechselbeziehung zwischen Milz und Knochenmark auf. (1, 4, 10, 20, 21, 22, 34) Hierbei interessiert in der vorliegenden Arbeit vor allem der Einfluß der Milz auf die Leukopoese. Es konnte beobachtet werden, daß Milzexstirpation beim Gesunden eine wesentlich stärkere und länger anhaltende Leukozytose auslöst (22, 25, 30, 33, 34) als beispielsweise eine einseitige Nierenresektion oder Entfernung des Omentum majus (9); auch im Falle völliger Milzatrophy wurden diese Blutbildveränderungen gesehen. (19, 22, 34) Von dieser Tatsache wurde ein spezifischer Einfluß der Milz auf das weiße Blutbild beim Gesunden hergeleitet (10, 19); diesbezüglich wurden in den letzten Jahrzehnten von verschiedenen Forschungsgruppen Versuche unternommen. So erzielte FUERTES (34) im Tierversuch eine Verminderung der Zahl der peripheren Blutzellen durch intravenöse Gabe von Perfusionsflüssigkeit einer gesunden Milz. PALMER und MA (34) konnten in Parabiose-Versuchen nachweisen, daß sich ein Granulozyten- und Lymphozytenanstieg im Blut der Versuchstiere nur ergab, wenn auch beim zweiten Parabionten die Splenektomie ausgeführt wurde. Man hat diese Beobachtung mit der Annahme erklärt, die Milz übe eine depressorische Markfunktion aus, die nach Splenektomie wegfallt (10). Sicher können wir bei unvoreingenommener Betrachtung dieser Wechselwirkung, die in sehr vielen Untersuchungen zum Ausdruck kommt, (34) einen regulierenden Einfluß der Milz als gesichert ansehen.

Es gibt Erkrankungen mit Vergrößerung der Milz, bei denen eine Hemmung der Leukopoese mit peripherer Granulopenie und hyperplastischem Knochenmark vorliegt. (7, 13, 14, 21) Nach Milzexstirpation kommt die vorher offenbar gehemmte Leukozytenreifung und -Ausschüttung wieder in Gang (7). Diese Befunde sprechen dafür, daß die Milz auf die Knochenmarkfunktion eine hemmende Fernwirkung ausübt (4, 22, 25) und daß die zuletzt erwähnte Hypersplenie als krankhaft gesteigerte Normosplenie gedeutet werden könnte (33, 34).

Trotz intensiver Forschung in den letzten Jahrzehnten über den Mechanismus dieser regulativen Wirkung konnten noch keine schlüssigen Ergebnisse erzielt werden. Nach DOAN (33) werden die Blutkörperchen in der Milz selektiv sequestriert und zerstört, wobei vermehrte Zelldestruktion zu einem als Hypersplenismus genannten Zustand führt. Die Milzsinus sollten demnach infolge ihrer spezifischen Gewebsstruktur und der dort herrschenden physiologischen Stase die Fragilität der Zellelemente erhöhen und der hämolysierenden und phagozytierenden Wirkung des RES aussetzen. (10, 11, 29, 30, 33, 34) HECKNER, HEILMEYER und MUTIUS (33) fanden jedoch kaum Abbauförmungen der weißen Blutzellen in der normalen Milz. Bei pathologisch leukopenischen Zuständen konnte VON HAAM (33) allerdings eine vermehrte Granulozytensequestration in der Milz beweisen, ebenso erhöhte Granulozytendestruktion. Für eine solche pathologische Sequestrationstätigkeit der Milz spricht auch die Beobachtung, daß bei sog. Immunocytopathien die Milzexstirpation oft die Zellwerte normalisiert, ob-

wohl Autoagglutinine weiterhin nachweisbar sind (19, 33). Vor allem die mit Isotopenmethoden gewonnenen Ergebnisse sprechen für eine überragende Rolle der beschleunigten und vermehrten Zerstörung von Blutelementen in der hypersplenischen Milz und eine pathologische Speicherfunktion des Organes (1, 11, 21, 29).

Andere Forscher erklären die Wechselwirkung zwischen Milz und Leukozytenzahl im peripheren Blut mit einer unterschiedlichen Verteilung der Granulozyten. Die Milz fungiert nach ihrer Auffassung als Granulozytenpool (17), der bei nicht splenektomierten Personen 50 % des Gesamtpools beträgt (33). Der Granulozytenanstieg nach Splenektomie versteht sich dann als Elimination des Milzpools mit entsprechender Vergrößerung des zirkulierenden intravasalen Leukozytenpools; diese Beobachtungen wurden durch Transfusion autologer, mit DFP³² markierter Leukozyten an splenektomierten Patienten gemacht. Bei Splenomegalie kann hier die periphere Leukopenie als Folge der Vergrößerung des marginalen Milzpools erklärt werden (14, 29, 33). Mit der Erforschung der Immunologie gelang es, bei Funktionsstörungen der Milz häufig Autoagglutinine gegen verschiedene Blutzellen nachzuweisen und in ursächlichen Zusammenhang mit peripheren Leukopenien zu bringen. Unter dem Einfluß der Agglutinine neigen die Zellen zur Verklumpung und anschließender Zerstörung in den Milzsinus.

Verschiedene Beobachtungen weisen darauf hin, daß auch das vegetative Nervensystem regulierend eingreift. (32, 34).

Die Milzwirkung besteht dabei in einer, den neurovegetativen Steuerungsreizen folgenden Produktion humoraler Wirkstoffe. Diese lösen - wie Hormone - an entsprechenden Erfolgsorganen positive oder negative Reaktionen im vago- oder sympathikotonen Sinne aus; je nach Ausgangslage bzw. vegetativer Stimmungslage reagiere also die Milz verschieden. (32, 18) Auch Wechselwirkungen zwischen endokrinen Organen und Milz scheinen sehr wahrscheinlich (5, 18, 22, 23, 24, 32, 34).

Trotz der mit Isotopenmethoden gewonnenen Ergebnisse kann eine Reihe von experimentellen und klinischen Daten nicht durch pathologische Speicherfunktion und Zelluntergang allein erklärt werden (14, 30).

Die Splenektomie führt zum Fortfall eines Hemm-Mechanismus auf die Proliferationstätigkeit und Zellausschwemmung des Knochenmarkes. BÜCHERL und SCHWAB (9) stellten an splenektomierten Ratten einen Anstieg der Granulozyten, Lymphozyten und eosinophilen Granulozyten fest. Nach den experimentellen Ergebnissen von BOCK und FRENZEL (8) führt die Unterbindung der von der Milz zur Leber ziehenden Vene zu einer wochenlang anhaltenden peripheren Cytopenie. Die Untersucher glaubten, dadurch einen humoralen Milzfaktor bewiesen zu haben, der bei normalen Kreislaufverhältnissen in der Leber inaktiviert würde. Von anderen Autoren konnten jedoch diese Ergebnisse nicht bestätigt werden (30).

Allerdings wurde nach Transplantation eines kleinen Milzstückchens nach Splenektomie nur ein geringer Leukozytenanstieg beobachtet (19).

Experimentelle Reizung des RES mit verschiedenen Injek-

tionsflüssigkeiten führten im Tierversuch zu Hypersplenie mit allen bekannten Folgen (23, 26, 33).

PEREZ - TAMAYO et al. (27) injizierten Harn derartiger hypersplenisch gemachter Ratten durch eine Sonde in ihren Magen und beobachteten als Folge Thrombopenie und Anämie. CROSBY und RUTZ (33) fanden eine leukopenisierende Wirkung verfütterter roher Milz.

BALDINI erzeugte Anämie bei säugenden Jungen von experimentell hypersplenisch gemachten Ratten (30, 33).

Für eine knochenmarkhemmende Wirkung von Milzextrakten sprechen auch die Versuche von FRESEN und KRETSCHMER (15). Sie stellen bei splenektomierten Tieren nach Ganzkörperbestrahlung eine bessere Regenerationsfähigkeit des Knochenmarkes fest als bei milznormalen Tieren (12). VON ALBERT erzielte an Knochenmarkkulturen mit Milzextrakten eine Proliferations- und Reifungshemmung (5). In weiteren Untersuchungen beobachtete er eine Hemmung von Enzymen der Folsäuresynthese und schloß daraus auf einen Angriff der Milzfaktoren am C-1-Stoffwechsel der Zellkerne (2, 3).

COTTIER (10) beschrieb eine thrombozyten- und leukozytenmindernde Wirkung mit einem salinischen Extrakt einer an Panhämocytopenie verstorbenen Patientin.

Versuche, die knochenmarkhemmende Wirkung der Milz therapeutisch zu nutzen, führten bereits zu erfolgreichen, wenn auch nicht dauerhaften Ergebnissen bei der Behandlung von Leukämiepatienten (35).

Schließlich seien noch die Ergebnisse von GOSTONZYK, FEESER und RUHENSTROTH-DAUER (16) erwähnt. Mittels zell-elektrophoretischer Untersuchungen konnten sie eine Ausschwemmung membran unreifer Granulozyten aus dem Mark nach Ganzkörperbestrahlung sichern. Der Effekt trat nur

an Tieren mit normaler Milz auf; RUHENSTROTH-BAUER nannte diesen Faktor "Granulomovin".

VON ALBERT äußert die Vermutung, daß es sich bei den wirksamen Substanzen um Polypeptide handelt (1, 16). Uns stellt sich die Frage, ob ähnliche Wirkstoffe auch in anderen Organen gebildet werden. Kompensatorische Übernahme der Milzfunktionen nach Splenektomie wurde immer wieder diskutiert (10, 22).

So fanden FRESEN und KRETSCHMER (15), daß die oben schon erwähnte Regenerationsfähigkeit des Knochenmarkes nach Bestrahlung, die bei unmittelbar vor der Bestrahlung splenektomierten Tieren besser als bei milznormalen Tieren war, sich verschlechtert, je länger die Milzexstirpation zurückliegt.

Es war das Ziel dieser Arbeit, zu untersuchen, ob zwischen Milz- und Serumextrakten verschiedener Tierarten qualitative und quantitative Unterschiede bestehen und ob auch Extrakte anderer Organe eine Wirkung auf das periphere weiße Blutbild zeigen.

II. MATERIAL UND METHODIK

1. Präparation niedermolekularer Serum- und Organextrakte

Das Material für die Präparation unserer Serum- und Organextrakte wurde frisch vom Schlachthof besorgt. Das Alter der Tiere betrug bei Kälbern ca. sechs bis acht Wochen, bei Schweinen vier bis acht Wochen, bei Lämmern ca. sechs bis acht Wochen.

Zur Homogenisierung und Zellaufschließung der Gewebe wurde ein Ultra-Turrax Homogenisator der Firma Janke & Kunkel KG. benutzt.

Für die nachstehend beschriebenen Dialyse-Verfahren verwendeten wir VISKING - Dialysierschläuche der Firma SERVA Feinbiochemica. Bei einem mittleren Poren-Radius von 24 Angström diffundieren Wasser, Ionen und niedermolekulare Substanzen bis zu einem Molekulargewicht von etwa 10 - 25 000; Proteine und Bakterien werden nicht durchgelassen. Wegen der höheren Konzentration bakteriell leicht angreifbarer Substanzen bei erstmaliger Dialyse von Organhomogenaten und Serum setzten wir der Dialysierflüssigkeit 100 mg Ampicillin und 100 mg Oxacillin/l zu. Nach Eindampfen des Dialysates wurden Substanzen, die durch die starke Konzentration ausgefallen waren, abzentrifugiert und verworfen. Den klaren Überstand verwendeten wir zur Weiterpräparation. Zur Eliminierung von Salzen und zur später beschriebenen Organfraktionierung benützten wir Sephadex, ein modifiziertes Dextran, dessen Polysaccharidketten zu einem dreidimensionalen Netzwerk verknüpft sind. Der Molekularsiebeffekt dieser Raumnetzstruktur kann für säulenchromatographische Trennungen genutzt werden. (26)

Die für Gelfiltrationen gebräuchlichen Sephadex-Typen unterscheiden sich nur in ihrer Maschenweite. Für Trennungen im niedermolekularen Bereich werden hochvernetzte Typen, im makromolekularen Bereich schwachvernetzte Typen verwendet. Im chromatographischen Prozeß der Gelfiltration werden Größenunterschiede zwischen verschiedenartigen Molekülen zu ihrer Trennung ausgenutzt. Moleküle, die größer als die Poren im Sephadexgel sind und somit oberhalb der Ausschlußgrenze liegen, wandern daher in der Lösungsphase außerhalb der Partikel durch die Säulenfüllung. Sie werden zuerst eluiert. Kleinere Moleküle dringen dagegen in einem von ihrer Größe und Form abhängigen Maß in die Gelpartikel ein, wandern somit verzögert und werden entsprechend der Reihenfolge abnehmender Molekülgröße eluiert.

Das Ausschlußvolumen der beiden von uns verwendeten Säulen wurde mittels Dextranblau (MG 2 000 000) getestet. Dabei kam der Sephadex-Geltyp G - 10 mit einem Fraktionierbereich von MG 0 - 700/800 zur Anwendung. Wir verarbeiteten von jedem der nachstehend aufgeführten Organe 300 g:

Kalb: Herz, Lunge, Niere, Milz, Thymus, Serum

Schwein: Milz und Serum

Lamm: Milz und Serum

Das Serum wurde von frisch bei der Schlachtung entnommenem Blut durch Abzentrifugieren gewonnen. Wir verdünnten und homogenisierten die einzelnen Gewebe 1 ad 6 Volumina mit aqua dest. p. i. Die Verarbeitung der Seren erfolgte entsprechend den Homogenaten. Serum und die verschiedenen Homogenate wurden gegen das zehnfache Volumen aqua dest. für 22 Stunden bei + 4 °C dialysiert.

In einem Rotationsverdampfer dampften wir das Dialysat bei einer Wassertemperatur von 47°C und einer Dampftemperatur von ca. $29 - 31^{\circ}\text{C}$ auf ca. 700 ml ein. Nach Abzentrifugierung ausgefallener Substanzen wurde der klare Überstand ad 1 000 ml verdünnt und über eine Sephadex - G - 10 - Gelsäule (870 x 142 mm) filtriert. Hierdurch erfolgte Abtrennung aller Stoffe mit $\text{MG} < 700 - 800$. Sammeln des Ausschlußvolumens. Nach Lyophilisation wurde der Rückstand in aqua dest. gelöst und erneut gegen das 20-fache Volumen bei $+ 4^{\circ}\text{C}$ für 22 Stunden dialysiert. Aufnahme des Rückstandes in 20 ml aqua dest. und zweiter Sephadex - G - 10 - Lauf (600 x 50 mm). Zur Abtrennung von Spuren höhermolekularer Verunreinigungen wurde eine letzte Dialyse mit denselben Volumenverhältnissen wie in der vorangegangenen angeschlossen. Nach Lyophilisation wurde der Rückstand in 0,9 %iger Kochsalzlösung aufgenommen; 0,1 ml enthielt 12 g- bzw. ml-Äquivalent. Der Molekulargewichtsbereich der Wirksubstanzen liegt bei etwa 700 bis 10 - 15 000.

2. P r ä p a r a t i o n h ö h e r m o l e k u l a r e r S e r u m - u n d O r g a n e x t r a k t e

Wir verwendeten für unsere Präparationen hier ausschließlich Organe von Kälbern:

Herz, Niere, Lunge, Leber, Milz, Gehirn, Skelettmuskel und Serum.

210 - 600 g frisches Organgewebe bzw. bis zu drei Wochen bei $- 17^{\circ}\text{C}$ eingefrorenes Gewebe wurde zerkleinert und zweimal mit 0,9 %iger Kochsalzlösung gewaschen.

Verdünnung 1 ad 5 mit aqua dest.p. i. und Homogenisierung. 48 - stündige Dialyse des Homogenates bzw. Serums bei + 4 °C unter Zusatz von 100 mg Oxacillin und 100 mg Ampicillin/l gegen 6 Volumina aqua dest. Nach Eindampfen des Dialysates wurden unlösliche Rückstände abzentrifugiert, der Überstand ad 1000 ml aqua dest. verdünnt und über eine Sephadex - G - 10 - Säule (870 x 142 mm) filtriert. Sammlung des Ausschlußvolumens. Nach Lyophilisation wurde der Rückstand in 200 ml aqua dest. aufgenommen und an einer Sephadex - G - 10 - Säule (810 x 75 mm) das Ausschlußvolumen gesammelt; Lyophilisation. Der Rückstand zeigte bei den einzelnen Organextrakten makroskopisch unterschiedlich starke Gelbfärbung. Milz-, Serum- und Leber-Extrakt lösten wir in jeweils 20 ml aqua dest. und halbierten die Menge (Teil A + B). Nach Lyophilisation wurde Teil A in 0,9 %iger Kochsalzlösung aufgenommen; 0,1 ml entsprach 10 g- bzw. ml-Äquivalent. Der Molekulargewichtsbereich der Wirksubstanzen liegt bei ca. 700 -> 25 000.

Teil B verwendeten wir für Molekulargewichtsfractionierungen.

3. F r a k t i o n i e r u n g h ö h e r m o l e k u l a - r e r S e r u m - u n d O r g a n e x t r a k t e

Teil B wurde nach Lyophilisation in 5 ml aqua dest. aufgenommen. Es erfolgte eine Molekulargewichtsfractionierung an einer Sephadex - G - 50 - Gelsäule (25 x 900 mm). Die Elutionsvolumina (Maxima) wurden mit Human - Albumin (MG 26 000), Myoglobin vom Pferd (MG 17 800) und Cytochrom C (MG 12 400) bestimmt.

Als Laufmittel wurden 0,01 n Ammoniumbicarbonat NH_4HCO_3 verwendet, das mit einer peristaltischen LKB-Schlauch - Pumpe der Säule zugeführt wurde. Durchflußgeschwindigkeit 15 - 18 ml/h (nur geringfügige Änderung der Laufgeschwindigkeit). Durchfluß des Eluates durch eine Quarz-Küvette und einen Beckmann - DBG - Spektralphotometer, Registrierung der Transmission bei fixierter Wellenlänge (220 bzw. 260 m). Fraktionierte Sammlung des Eluates mit einem Radi - Rac - Fraktionssammler in Reagenzgläsern in 10 - Minuten-Intervallen. Es erfolgte eine Auftrennung in etwa 10 - 15 Absorptionsmaxima mit teilweiser Überlagerung (s. Abbildung 1, 2, 3).

Für anschließende Tierversuche wurden vier Fraktionen gesammelt; die Fraktionsvolumina sowie angenäherte Molekulargewichtsbereiche sind in Tabelle 1 dargestellt. Entsprechend der vorhergegangenen Dialyse bei der Extraktpräparation beträgt das maximale Molekulargewicht in der Fraktion I etwa 25 000; die unterste Molekulargewichtsgrenze bei der Fraktion IV dürfte entsprechend 700 - 800 betragen. Lyophilisation der Fraktionen, Aufnahme des Rückstandes in 0,9 %iger Kochsalzlösung; 0,1 ml entsprechen 5 g- bzw. ml-Äquivalent.

Tabelle 1

Molekulargewichtsfractionen der G - 50 - Gelchromatographie

Fraktionen	Sammelvolumen	Molekulargewichts-Bereiche
F I	100 - 200 ml	∞ - 21 000
F II	200 - 300 ml	21 000 - 10 000
F III	300 - 410 ml	10 000 - 5 000
F IV	410 - 520 ml	5 000 - 0

4. T i e r v e r s u c h e

a) Durchführung der Untersuchungen

Die Testung der Wirksamkeit der verschiedenen Extrakte auf das leukozytäre periphere Blutbild erfolgte an Gruppen von ca. 20 weiblichen NMRI - Mäusen von etwa 16 - 22 g Körpergewicht.

Zur Standardisierung der Versuchsbedingungen wurden die Versuche im Laufe der beiden folgenden Tage nach der Tierlieferung durchgeführt. Wir injizierten pro Tier 0,1 ml Extrakt mit einer Tuberkulinspritze intraperitoneal unter kurzer Äthernarkose. Bei den einzelnen Versuchen wurde jeweils ein Vergleichskollektiv mit 0,1 ml 0,9 %iger Kochsalzlösung gespritzt.

Von allen niedermolekularen Extrakten applizierten wir pro Tier 12 g- bzw. ml-Äquivalent, von den höhermolekularen Extrakten 10 g- bzw. ml-Äquivalent. Die Substanzmenge der höhermolekularen Organ - Fraktionen betrug 5 g- bzw. ml-Äquivalent.

4 Stunden nach Injektion erfolgte unter Äthernarkose Abnahme von 0,02 ml Blut aus einer Schwanzvene in eine heparinisierte Kapillare. Einpipettieren in 10 ml ISOTON der Firma Coulter Electronics Ltd. Auftupfen von 1 Tropfen Blut auf einen Objektträger zur Fertigung eines Ausstriches. Bestimmung der Leukozytenzahlen mit einem Coulter - Counter der Firma Coulter Electronics Ltd. (Mod. D. Serial No 2191) mit 100 μ - Kapillare (Verstärkung und Schwelle). Jede Messung wurde zweimal durchgeführt; bei Abweichung der Meßwerte wurden die Mittelwerte bestimmt. Färbung der Ausstriche nach PAPPENHEIM und mikroskopische Differenzierung der Leukozyten (200 Zellen pro Ausstrich).

Die Auszählung der Ausstriche unterblieb bei den Untersuchungen der Wirkung derjenigen niedermolekularen Organextrakte, die gegenüber der NaCl-Kontrollgruppe keine signifikante Senkung ergaben. Ebenso wurden bei den Kälberleberfraktionen nur die Leukozytenzahlen bestimmt.

b) Statistische Auswertung

Mit dem DAVID - Test wurde bei allen Stichproben auf Normalverteilung geprüft, wobei eine angenäherte Normalität noch angenommen wurde, wenn die Wahrscheinlichkeit der Nichtnormalität unter 95 % lag ($P < 0,05$). Bei den normalverteilten Stichproben wurde die Signifikanz der Mittelwerts-Differenzen gegenüber den Kochsalzkontrollwerten mit dem T - Test nach STUDENT ermittelt (31). Bei nicht normalen Stichproben wurde der Signifikanztest nach KOLMOGOROFF durchgeführt, für den keinerlei Vorbedingungen bestehen.

III. ERGEBNISSE

1. Wirkung niedermolekularer Serum- und Milzextrakte verschiedener Tiere

Die biologische Wirksamkeit der niedermolekularen Milz- und Serumextrakte von Schwein, Kalb und Lamm sowie von Kälberthymus geht aus Tabelle 2 hervor.

Alle Extrakte außer Schweine-Serum und Lamm-Milz bewirkten eine hochsignifikante Leukozytendepression, die nach dem Differentialblutbild durch eine starke Senkung der Lymphozytenzahl bedingt ist. Die neutrophilen segmentkernigen Granulozyten waren nach Injektion aller Extrakte signifikant erhöht. Über eine Wirkung auf die Zahl der neutrophilen stabkernigen Granulozyten, Monozyten und eosinophilen Granulozyten ist bei einer Auszählung von 200 Zellen aus statistischen Gründen (geringe Zellzahl) eine Aussage nur bedingt möglich.

2. Wirkung niedermolekularer Organextrakte von Kälbern

Für Organvergleiche im niedermolekularen Bereich untersuchten wir ausschließlich Organe von Kälbern.

Milz-, Serum- und Thymus - Extrakte zeigten eine hochsignifikante Senkung der Leukozyten - Zahlen, während Lungen-, Leber-, Herzmuskel- und Nierengewebe einen solchen Effekt nicht bewirkten. (s. Tabelle 2)

Lungen- und Leberextrakte führten zu geringfügiger Erhöhung der Leukozyten-Zahlen.

Tabelle 2

Veränderung des weißen Blutbildes durch niedermolekulare Milz- und Serumextrakte verschiedener Säugetiere

16

Tiere/Organe	%	Leukozyten	Lymphozyten	monozyten	neutr. seg. Granulozyten	neutr. stab. Granulozyten	eosinophile Granulozyten
Schweine-milz	$\bar{x}$	56,9	36,4	109,8	196,0	123,5	40,5
	2 σ P	+ 37,2 < 0,0001	+ 28,9 < 0,0001	+ 155,0 -----	+ 170,0 < 0,001	+ 321,6 -----	+ 54,2 < 0,05
Schweine-Serum	$\bar{x}$	109,5	84,2	156,2	223,0	166,0	113,0
	2 σ P	+ 73,8 -----	+ 68,0 -----	+ 184,2 < 0,1	+ 212,6 < 0,001	+ 222,0 < 0,05	+ 138,2 -----
Kälber-milz	$\bar{x}$	67,9	49,1	58,5	137,3	258,9	90,3
	2 σ P	+ 35,8 < 0,0001	+ 19,7 < 0,01	+ 79,0 < 0,05	+ 146,8 < 0,05	+ 153,0 < 0,05	+ 262,4 -----
Kälber-Serum	$\bar{x}$	73,4	58,7	79,8	156,6	231,2	155,1
	2 σ P	+ 25,6 < 0,0001	+ 29,6 < 0,01	+ 149,8 -----	+ 125,8 < 0,001	+ 303,0 < 0,05	+ 316,0 -----
Kälber-Thymus	$\bar{x}$	70,4	45,9	41,7	221,2	72,4	100,1
	2 σ P	+ 34,4 < 0,0001	+ 20,8 < 0,0001	+ 67,8 < 0,001	+ 143,8 < 0,0001	+ 68,6 -----	+ 228,8 -----
Lamm-Serum	$\bar{x}$	78,7	56,2	36,9	184,7	256,1	160,9
	2 σ P	+ 41,4 < 0,01	+ 25,8 < 0,0001	+ 123,3 -----	+ 120,0 < 0,0001	+ 243,2 -----	+ 240,0 -----
Lamm-milz	$\bar{x}$	133,1					
	2 σ P	+ 42,2 < 0,0001					

 $\bar{x}$ = Mittelwert2 σ = doppelte Standardabweichung

P = Signifikanz gegen NaCl-ließereihe

NaCl = 0,9 %ige Kochsalzlösung, die Werte aller Tabellen sind in Prozenten angegeben. NaCl-ließereihe = 100 %.

Wirkung niedermolekularer Organextrakte von Kälbern

(MG ca. 700 bis 10000-15000)

Organe	Leukozyten % $\bar{x}$ $\pm$ 2 σ			P
Milz	67,9	$\pm$	35,8	< 0,0001
Serum	73,4	$\pm$	25,6	< 0,0001
Thymus	70,4	$\pm$	34,4	< 0,0001
Lunge	116,9	$\pm$	49,8	< 0,05
Leber	114,7	$\pm$	82,6	< 0,05
Herz	110,5	$\pm$	51,7	----
Niere	103,9	$\pm$	43,1	----

Zeichenerklärung siehe Tabelle 2

3. Wirkung höhermolekularer Organextrakte von Kälbern

Im höhermolekularen Bereich konnten wir bei allen Organextrakten eine massive Senkung der Leukozytenzahlen beobachten; dieser Effekt beruht vorwiegend auf der hochgradigen Lymphozytendepression. Die Monozytenzahl war, außer bei Herz- und Skeletmuskelextrakt, signifikant gesenkt. Die neutrophilen segmentkernigen Granulozyten wurden von Lungen- und Leberextrakten gesenkt, alle anderen Organextrakte führten zu signifikanter Erhöhung dieser Zellen.

Aus statistischen Gründen war eine Auswertung der Ergebnisse bei neutrophilen stabkernigen Granulozyten und eosinophilen Granulozyten nur bedingt möglich (kleine Zellzahlen).

Verglichen mit der Wirkung niedermolekularer Organextrakte konnte für höhermolekulare Kälbermilz- und Kälberserumextrakte weitgehende Übereinstimmung bezüglich qualitativer und quantitativer Wirkung auf die Zahl der Leukozyten, Lymphozyten und neutrophilen segmentkernigen Granulozyten beobachtet werden. Die Prüfung der leukopenisierenden Wirkung von niedermolekularen Extrakten aus Lunge, Niere, Leber und Herzmuskel ergab keine signifikante Senkung der Leukozyten; die höhermolekularen Extrakte der gleichen Organe, sowie von Skeletmuskel und Gehirn führten zu einer statistisch gesicherten Senkung der Leukozytenzahlen und eine, den niedermolekularen Milz-, Serum- und Thymusextrakten ähnliche Wirkung auf das Differentialblutbild.

Wirkung höhermolekularer Organextrakte von Kälbern (MG ca. 700 bis >25000)

Organe	%	Leukozyten	Lymphozyten	Monozyten	neutr. seg. Granulozyten	neutr. stab Granulozyten	eosinophile Granulozyten
Milz	$\bar{x}$	50,6	35,1	44,1	137,7	65,9	19,6
	2σ P	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ < 0,02	$\pm$ < 0,1	$\pm$ 99,4	$\pm$ 63,8 < 0,01
Serum	$\bar{x}$	47,6	33,0	54,8	144,7	95,3	16,9
	2σ P	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ < 0,05	$\pm$ < 0,05	$\pm$ 121,0	$\pm$ 132,8 < 0,05
Lunge	$\bar{x}$	41,4	37,3	5,7	43,7	44,9	40,5
	2σ P	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ < 0,01	$\pm$ < 0,001	$\pm$ < 0,05	$\pm$ < 0,05	$\pm$ 125,6 -----
Leber	$\bar{x}$	46,3	43,2	12,2	54,5	99,1	24,3
	2σ P	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ < 0,01	$\pm$ < 0,002	$\pm$ 172,8	$\pm$ 115,6 -----
Niere	$\bar{x}$	50,7	37,7	74,3	136,9	71,0	-----
	2σ P	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ -----	$\pm$ < 0,05	$\pm$ 91,4	-----
Herzmuskel	$\bar{x}$	89,4	45,3	167,2	308,0	143,3	15,0
	2σ P	$\pm$ -----	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ < 0,1	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ 142,7	$\pm$ 46,4 -----
Gehirn	$\bar{x}$	56,4	40,9	65,3	145,9	99,7	90,3
	2σ P	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ < 0,1	$\pm$ < 0,02	$\pm$ 88,6	$\pm$ 165,6 -----
Skelettmuskel	$\bar{x}$	47,4	35,5	91,9	145,4	21,2	24,6
	2σ P	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ < 0,0001	$\pm$ -----	$\pm$ < 0,02	$\pm$ < 0,01	$\pm$ 106,6 < 0,05

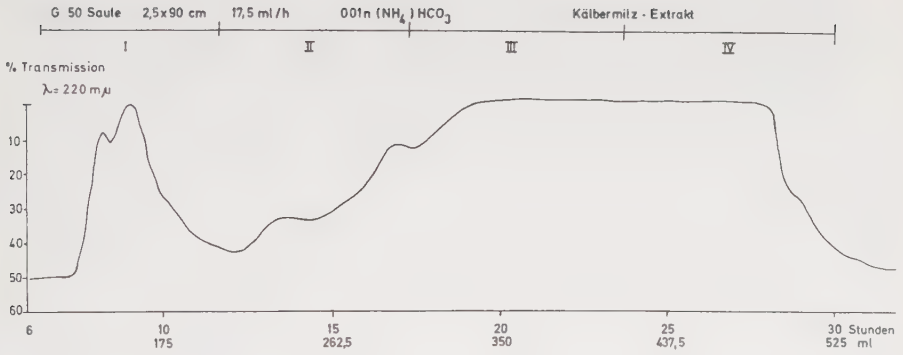
Zeichenerklärung: siehe Tabelle 2

4. Wirkung höhermolekularer Serum- und Organfraktionen

Nach den Trennprozessen von Milz-, Serum- und Leber-
extrakt erhielten wir differenzierte photometrische
Auftrennungen (Abb. 1 - 3)

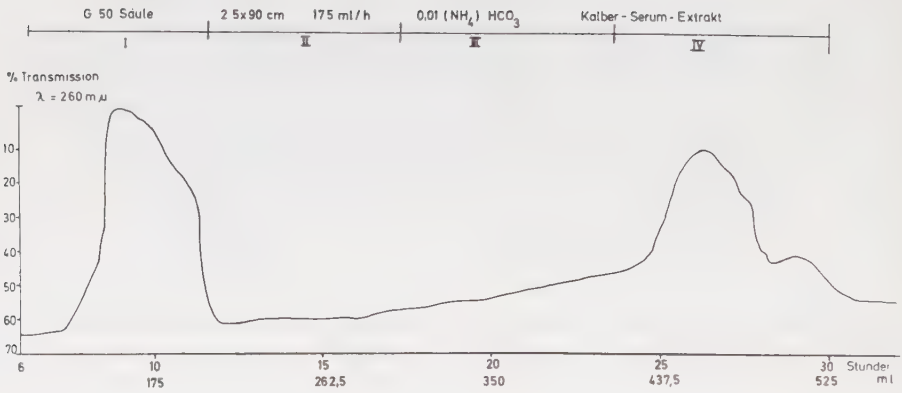
Das Eluat der einzelnen Säulentrennungen wurde in
vier annähernd gleiche Fraktionen aufgeteilt. Für je-
des der drei zur Trennung verwendeten Organe bestand
Übereinstimmung der einzelnen Fraktionen bezüglich
Eluatvolumen und Molekulargewichtsbereich; (Tabelle 1)
hierdurch war es möglich, die einzelnen Fraktionen ver-
schiedener Organextrakte hinsichtlich ihrer Wirkung
zu vergleichen.

Abbildung 1



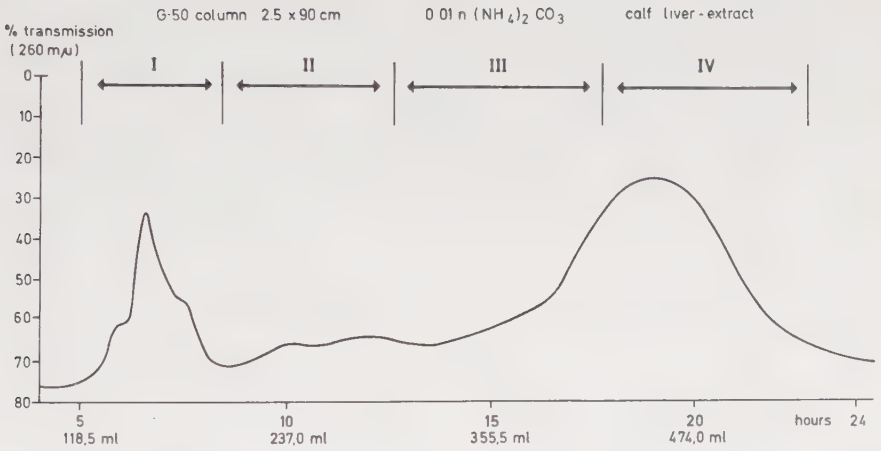
Abszisse Durchflußvolumen bzw. Laufzeit; Ordinate Transmission bei 220 $\text{m}\mu$
 Fraktion I - IV

Abbildung 2



Abszisse Durchflußvolumen bzw. Laufzeit; Ordinate Transmission bei 260 m μ
 Fraktion I - IV

Abbildung 3



Abszisse Durchflußvolumen bzw. Laufzeit; Ordinate Transmission bei 260 m μ
 Fraktionen I - IV

Die Wirkungen der Milz-, Serum- und Leberfraktionen wurden im Tierversuch mit je 5 g- bzw. ml-Äquivalenten getestet. Die hämatologische und statistische Auswertung ist in Tabelle 5 dargestellt.

Das Maximum der Leukozytendepression liegt für Milzextrakt in Fraktion II und IV, für Serum in Fraktion I und III. Leberextrakt zeigt in allen Fraktionen, besonders aber in Fraktion II, eine starke leukodepressorische Wirkung auf das periphere Blutbild.

Hinsichtlich der lymphozytensenkenden Wirkung hat Milzextrakt ein Wirkungsmaximum in Fraktion II und IV, Serumextrakt dagegen in Fraktion I und III. Letzterer besitzt ferner in Fraktion I und Fraktion IV auf Monozyten eine stark leukopenisierende Wirkung. Dagegen kann bei Fraktion I des Milzextraktes ein starker Monozytenanstieg beobachtet werden, der sich in den übrigen Milzfraktionen auf ein gleichmäßiges Niveau einpendelt. Vergleiche der neutrophilen segmentkernigen Granulozyten nach Milz- und Serumextraktfraktionen ergeben bei Milzfraktion I und IV einen erheblichen Anstieg, bei Serumextrakt eine mäßige Erhöhung in Fraktion III und geringe Senkung in Fraktion I.

Die neutrophilen stabkernigen Granulozyten werden durch sämtliche Serumfraktionen gesenkt, am stärksten durch Fraktion II und IV. Nach Milzextrakt tritt dagegen in Fraktion I und II eine Erhöhung der neutrophilen stabkernigen Granulozyten auf, in Fraktion III und IV eine geringe Senkung.

Höhermolekulare Organfraktionen und Leukozytenzahlen

Organe	%	Fraktion I	Fraktion II	Fraktion III	Fraktion IV
Milz	$\bar{x}$	103,1	52,4	84,3	61,2
	2σ	$\pm 42,8$	$\pm 30,2$	$\pm 51,5$	$\pm 45,8$
	P	-----	$< 0,0001$	$< 0,05$	$< 0,01$
Serum	$\bar{x}$	56,5	75,6	62,8	63,9
	2σ	$\pm 53,4$	$\pm 45,0$	$\pm 30,8$	$\pm 27,4$
	P	$< 0,0001$	$< 0,01$	$< 0,0001$	$< 0,0001$
Leber	$\bar{x}$	47,6	41,0	43,3	43,0
	2σ	$\pm 23,9$	$\pm 19,4$	$\pm 16,8$	$\pm 24,8$
	P	$< 0,0001$	$< 0,0001$	$< 0,0001$	$< 0,0001$

Zeichenerklärung siehe Tabelle 2

Tabelle 6

Serumfraktionen und peripheres weißes Blutbild

Fraktionen	%	Lymphozyten	Monozyten	neutr. seg. Granulozyten	neutr. stab. Granulozyten	eosinophile Granulozyten
F I	$\bar{x}$	52,1	40,9	93,4	71,9	42,3
	2σ p	$\pm$ <	$\pm$ <	$\pm$ 92,5	$\pm$ 105,8	$\pm$ 127,0 0,05
F II	$\bar{x}$	72,3	44,2	129,2	44,0	44,5
	2σ p	$\pm$ <	$\pm$ <	$\pm$ 70,2 0,05	$\pm$ 102,2 0,01	$\pm$ 121,8 -----
F III	$\bar{x}$	54,3	42,4	136,2	50,7	48,9
	2σ p	$\pm$ <	$\pm$ <	$\pm$ 102,4 0,05	$\pm$ 115,4 0,02	$\pm$ 117,4 -----
F IV	$\bar{x}$	58,8	29,5	107,8	44,2	19,7
	2σ p	$\pm$ <	$\pm$ <	$\pm$ 60,9	$\pm$ 97,8 0,05	$\pm$ 79,0 0,01

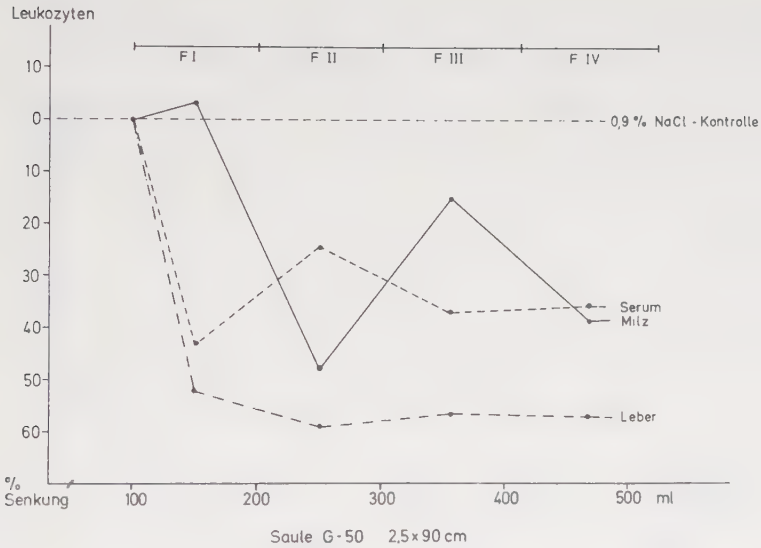
26

Milzfraktionen und peripheres weißes Blutbild

F I	$\bar{x}$	31,5	1798,9	302,2	134,2	-----
	2σ p	$\pm$ <	$\pm$ <	$\pm$ 182,4 0,0001	$\pm$ 266,7	-----
F II	$\bar{x}$	31,9	588,4	243,6	233,9	-----
	2σ p	$\pm$ <	$\pm$ <	$\pm$ 252,4 0,0001	$\pm$ 307,8 0,01	-----
F III	$\bar{x}$	72,7	676,9	214,9	81,3	-----
	2σ p	$\pm$ <	$\pm$ <	$\pm$ 120,2 0,0001	$\pm$ 136,0	-----
F IV	$\bar{x}$	36,6	552,1	267,3	82,9	-----
	2σ p	$\pm$ <	$\pm$ <	$\pm$ 295,8 0,0001	$\pm$ 179,6	-----

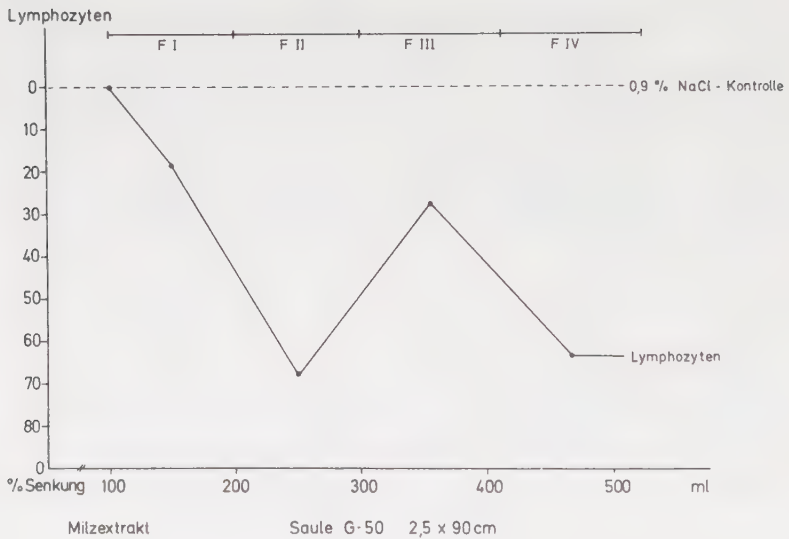
Zeichenerklärung siehe Tabelle 2

Abbildung 4



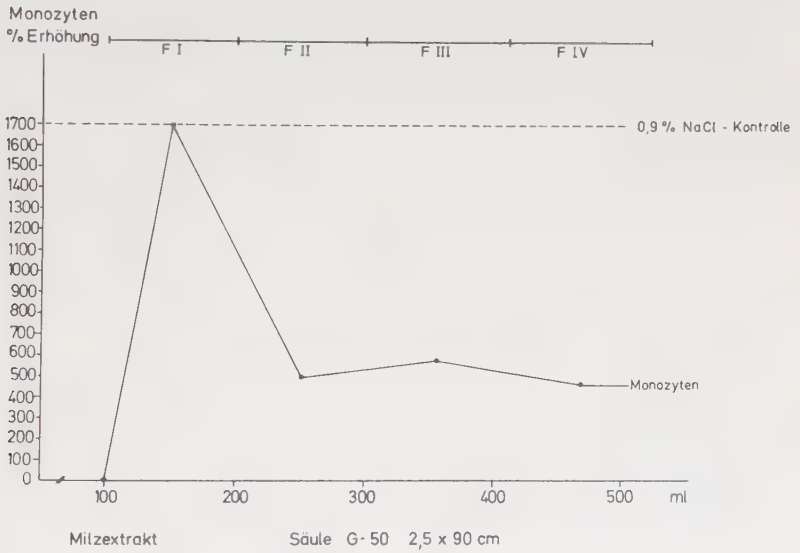
Abszisse Fraktionsvolumina der G - 50 - Säule. Ordinate Prozentuale Abweichung der Leukozytenzahlen von der Kochsalzkontrolle (0 %)

Abbildung 5



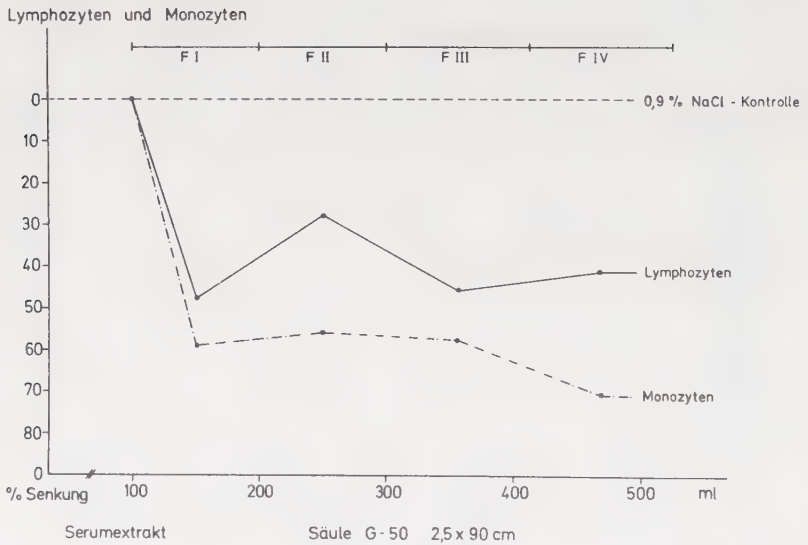
Abszisse Fraktionsvolumina der G - 50 - Säule. Ordinate Prozentuale Abweichung der Lymphozyten von der Kochsalzkontrolle (0 %)

Abbildung 6



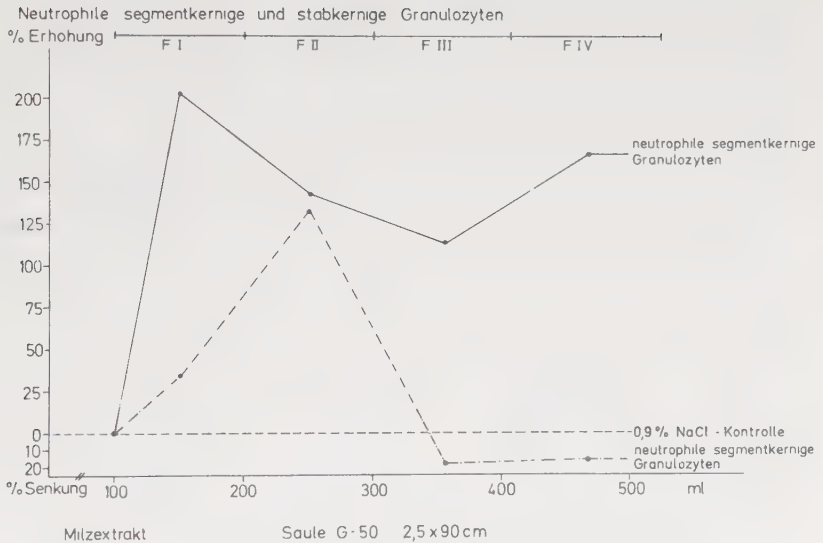
Abszisse Fraktionsvolumina der G - 50 - Säule. Ordinate Prozentuale Abweichung der Monozyten von der Kochsalzkontrolle (0 %)

Abbildung 7



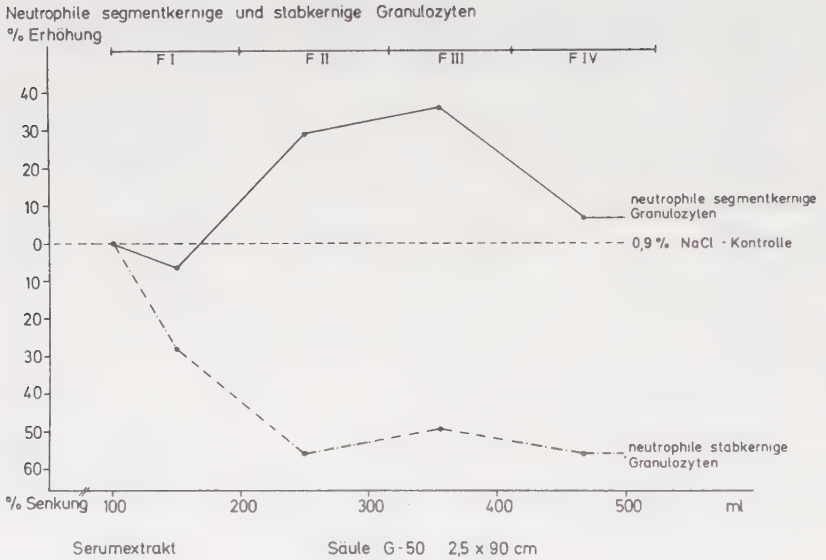
Abszisse Fraktionsvolumina der G - 50 - Säule. Ordinate Prozentuale Abweichung der Lymphozyten und Monozyten von der Kochsalzkontrolle (0 %)

Abbildung 8



Abszisse Fraktionsvolumina der G - 50 - Säule. Ordinate Prozentuale Abweichung der neutrophilen segmentkernigen und neutrophilen stabkernigen Granulozyten von der Kochsalzkontrolle (0 %)

Abbildung 9



Abszisse Fraktionsvolumina der G - 50 - Säule. Ordinate Prozentuale Abweichung der neutrophilen segmentkernigen und neutrophilen stabkernigen Granulozyten von der Kochsalzkontrolle (0 %)

IV. DISKUSSION

Die vielfältigen Ergebnisse der experimentellen und klinischen Milzforschung lassen den Schluß zu, daß dieses Organ antagonistisch und synergistisch wirkende humorale Substanzen unter dem Einfluß von Vegetativum und Endokrinium bildet (17, 21, 34).

In eigenen Untersuchungen bemühten wir uns, einerseits qualitative und quantitative Wirkungsunterschiede zwischen Milz- und Serumextrakten einzelner Tierarten zu erforschen, andererseits zu prüfen, ob mit Extrakten anderer Organe ähnliche Effekte hervorgerufen werden können. Zur exakteren Differenzierung der aktiven Substanzen versuchten wir eine Zuordnung zu Molekulargewichtsbereichen. Mit niedermolekularen Milz- und Serumextrakten verschiedener Tiere sowie Kälberthymus erzielten wir weitgehend übereinstimmende Effekte auf die Zahlen von Leukozyten, Lymphozyten und segmentkernigen Granulozyten. Lediglich Schweineserum und Lammilz zeigten abweichendes Verhalten. Wir schlossen daraus, daß die humoralen Faktoren bei den wirksamen Extrakten in einem ähnlichen Molekulargewichtsbereich liegen. Das andersartige Verhalten von Schweineserum und Lammilz kann durch qualitative und/oder quantitative Unterschiede bezüglich der humoralen Faktoren bedingt sein. Die weitgehende qualitative Übereinstimmung der Wirkungen von Milz- und Serumextrakt ist wahrscheinlich dadurch bedingt, daß die im Serum enthaltenen Wirksubstanzen in der Milz gebildet werden. Diese Auffassung wird durch den experimentellen Befund von leukopenisierenden Serumfaktoren

nach Milzbestrahlung (12) sowie entsprechenden Serumfaktoren nach Milz- und Ganzkörperbestrahlung durch KLEINSCHROTT in unserem Labor gestützt.

Um einen möglichen Effekt von Extrakten anderer Organe zu untersuchen, stellten wir in zwei verschiedenen Präparationsweisen nieder- und höhermolekulare Extrakte dar. Im Tierversuch zeigte sich eine aktive Komponente nur im Bereich der höhermolekularen Organextrakte; wir erzielten hier einen analogen Effekt wie mit niedermolekularen Extrakten von Milz, Serum und Thymus. Daraus schlossen wir, daß allen Organen ein einheitliches Wirkungsprinzip innewohnt, dessen Funktion von der Produktion molekulargewichtsmäßig differierender Substanzen getragen wird. Dabei scheint die Milz eine dominierende Rolle zu spielen, was die Ausschüttung dieser organspezifischen Stoffe betrifft. Vermutlich besteht bei gesunden Individuen entweder eine Hemmung der Milz einerseits auf die Ausschwemmung dieser höhermolekularen Substanzen anderer Organe oder diese Substanzen werden nicht an die Blutbahn abgegeben und können deshalb keine hormonartigen Fernwirkungen entfalten.

In unseren Untersuchungen auf wirksame, in bestimmten Molekulargewichtsbereichen lokalisierte Milz- und Serumfraktionen konnten wir keine Übereinstimmung bezüglich der molekularen Wirkungsmaxima feststellen. Diese Unterschiede weisen darauf hin, daß eventuell die Bildung der wirksamen Serumfraktionen auch in anderen Organen außerhalb der Milz erfolgt oder Milzfaktoren nach Abgabe in die Blutbahn sekundären Veränderungen der molekularen Struktur unterliegen, wie z. B. der Bildung von Dimeren.

Die Wirkung unserer Präparate und Fraktionen besteht in einer signifikanten Leukozytensenkung, die hauptsächlich durch einen Lymphozytenabfall bedingt ist. Gleichzeitig trat eine statistisch gesicherte Erhöhung der neutrophilen segmentkernigen Granulozyten bei unterschiedlichem Verhalten der Monozyten, neutrophilen stabkernigen und eosinophilen Granulozyten auf.

Die Wirkungsweise unserer Substanzen besteht wohl weitgehend in einer Mitosehemmung; ein solcher Effekt wurde von einer rumänischen Forschungsgruppe, die einen niedermolekularen Milzextrakt aus unserem Labor auf seine antimitotische Wirkung untersuchte, nachgewiesen. Die Präparation dieses Extraktes wurde folgendermaßen durchgeführt: 36 - stündige Dialyse, 2 x G-10-Säule, 1 x G-25-Säule, wobei das Ausschlußvolumen verworfen wurde. Molekulargewichtsbereich des Extraktes ca. 4000 - 7000. Die rumänische Arbeitsgruppe konnte am Epithel von Dünndarm und Ohrhaut eine Mitosehemmung erzielen, die bereits vor dem Angriffspunkt von Colchizin in der Prophase wirksam wird. Keine Effekte zeigten diese Extrakte an Cornea und Zungengrund; somit besteht ein gewebsspezifischer Unterschied hinsichtlich Affinität und Einfluß auf die Mitoserate. Ähnliche Experimente wurden von VON ALBERT unternommen, der ebenfalls mit einem Extrakt aus menschlichen Hyperspleniemilzen eine Hemmwirkung auf Knochenmarkkulturen nachwies (1, 4). Wahrscheinlich ist nach diesen Ergebnissen, daß humorale Milzfaktoren eine antimitotische Wirkung auf stark proliferierende Gewebe ausüben; in diesem Sinne können wir die in unseren Versuchen auftretende Lymphopenie deuten. Die nach initialem Granulozytenabfall einsetzende Granulozy-

tose könnte durch Zerfallsprodukte von leukozytären Zellen induziert werden (33).

Hinsichtlich der Frage nach der Organspezifität der leukopenisierenden antimitotischen Faktoren kann wohl gesagt werden, daß diese nur partiell insofern besteht, als bei intaktem Organismus die von der Milz produzierten Substanzen eine dominierende Rolle spielen.

Die zunächst Überraschende Tatsache, daß im höhermolekularen Bereich die verschiedensten Organe eine leukopenisierende Wirkung besitzen, spricht für ein wohl weitgehend in allen Säugetierorganen vorhandenes antimitotisches Prinzip.

Diese höhermolekularen Substanzen dürften wohl vom gesunden Organismus nicht in die periphere Blutbahn abgegeben werden und deshalb keine Fernwirkung ausüben. Sie könnten jedoch bei der Regelung der Mitosefrequenz in den verschiedenen Organgeweben eine wesentliche Rolle spielen. Die Sonderstellung der Milz in diesem System mit Fernwirkungen sowie der häufig beobachteten antineoplastischen Wirkung - selten Milzmetastasen - (6) beruht wahrscheinlich auf der Ausschüttung dieser Substanzen in die Blutbahn.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die Wirkung von niedermolekularen Substanzen (MG 700 - 15000) aus Milz und Serum von Kalb, Schwein und Lamm sowie Kälberthymus, Kälberherz, Kälberlunge, Kälberleber und Kälberniere auf das leukozytäre periphere Blutbild von Mäusen untersucht. Milzextrakt von Kalb und Schwein sowie Serumextrakt von Kalb und Lamm bewirkten bei Mäusen nach vier Stunden eine Leukopenie, Lymphopenie und Granulozytose; die anderen niedermolekularen Organpräparationen waren wirkungslos.

Höhermolekulare Organextrakte (MG 700 - >25000) von Kälbermilz, Kälberserum, Kälberlunge, Kälberherz, Kälberleber, Kälbermuskulatur, Kälberniere und Kälberhirn ergaben eine starke, im wesentlichen qualitativ mit den niedermolekularen Extrakten Übereinstimmende Wirkung auf das leukozytäre Blutbild. Die Wirksamkeit von allen untersuchten Kälberorganen im höhermolekularen Bereich bei Wirkungslosigkeit der Organextrakte im niedermolekularen Bereich mit Ausnahme von Milz, Serum und Thymus zeigen die besondere Bedeutung von Milz und Thymus für das leukozytäre Blutbild sowie die Ubiquität von Substanzen mit entsprechender Wirkung. Es scheint somit erwiesen, daß ein Milz- bzw. Serum- und Thymusfaktor im Sinne einer Organspezifität nur im niedermolekularen Bereich besteht, während Extraktpräparationen im höhermolekularen Bereich aller untersuchten Organe qualitativ im wesentlichen mit obigen Faktoren Übereinstimmende Wirkung zeigen.

Entsprechend der G - 50 Molekulargewichtsfractionierung enthält Serum, Milz und Leber jeweils mehrere höhermolekulare Wirksubstanzen.

SUMMARY

The effect of low-mol. w. substances (mol. w. about 700 - 15000) of spleen tissue and serum of calves, pigs and lambs and calf thymus, calf heart muscle, calf lounge, calf liver and calf kidney upon peripheral differential w. b. c. count of mice was tested. Spleen-extract from calves and pigs and serum-extract from calves and lambs and thymus-extract of calves after 4 hours effected leucocytopenia, lymphocytopenia and granulocytosis; the other low-mol. w. organ extracts were not effective. Higher-molecular organ extracts (mol. w. about 700 - >25000) of spleen tissue, serum, lounge, heart muscle, liver, skeleton muscle, kidney and brain of calves had a strong, qualitatively with the low-mol. w. extracts almost identical effect.

The effect of higher mol. w. extracts of all tested organs of calves and the ineffectivity of low-mol. w. extracts with the exception of spleen, serum and thymus give evidence of the special importance of spleen and thymus and point to the widespread presence of substances with the above mentioned effects upon peripheral w. b. c. count. It seems to be obvious, that a spleen-factor respectively serum-factor and thymus-factor in the sense of a specific organ effect can only be postulated in the low-mol. w. range; in the higher mol. w. range all tested extracts of organs gave effects identical with low-mol. w. factors.

According to G-50 fractionation serum, spleen and liver contain different effective substances in the higher mol. w. range.

1. v. ALBERT, H.H., Biochemische Untersuchungen über
knochenmarkwirksame Faktoren in Milzex-
trakten
Zschr. inn. Med. 24, 16 (1969)
2. v. ALBERT, H.H., Die Wirkung von eiweißfreien Milz-
extrakten auf die Oxymethyl-Tetrahydro-
folat-Dehydrogenase in menschlichen Leuko-
zyten
Klinische Wochenschrift 43, 905 (1965)
3. v. ALBERT, H.H. Die Wirkung von eiweißfreien Milz-
extrakten auf die Tetrahydrofolat-Formy-
lase in menschlichen Leukozyten
Klinische Wochenschrift 43, 751 (1965)
4. v. ALBERT, H.H. Zur Frage einer depressorischen
Knochenmarkswirkung hypersplener Milzen
Blut 9, 405 (1963)
5. ANGERVALL, L., LUNDIN, P.M. Corticosteroid Action on
the Fetal Thymus and Spleen
Endocrinology 74, 986 (1964)
6. ARAKI, F., SUGIHARA, Y. Carcinostatic Substance pre-
pared from Bovine Spleen
Hiroshima Journal of Med.
Sciences 18, 253 (1969)

7. BALDINI, M. Banti's view of Splenic Anemia
Hypersplenism and the Humoral Factor
Proceedings VI
Congress of the International Society
of Hematology
New York, Grune & Stratton, 422 (1958)

8. BOCK, H.E., FRENZEL, B. Splenogene Knochenmarkhemmung
Klinische Wochenschrift 17, 1315 (1938)

9. BÜCHERL, E., SCHWAB, M., Der Einfluß der Milz auf das
weiße Blutbild
Klinische Wochenschrift 43/44, 731 (1951)

10. COTTIER, H. Experimenteller Beitrag zur Frage der
hypersplenischen Pancytopenien
Acta haematologica
Basel 7, 8 (1952)

11. CROSBY, W.H. Is Hypersplenism a Dead Issue
Blood 20, 94 (1962)

12. DALOS, B. Factor in Serum inhibiting Bone Marrow -
Mitoses after x-irradiation of the Spleen
Nature 1966

13. DAMASHEK, W. Hypersplenism. Bull.
New York Acad. Med. 31, 113 (1955)

14. FISCHER, J. Hypersplenismus
Internist, 4, 176 (1971)

15. FRESEN, O., KRETSCHMER, H. Beziehungen zwischen
Milz und Hämopoese
Z. ges. exp. Med. 154, 36 - 59
Springer - Verlag (1971)

16. GOSTOMZYK, I.G., FEESER, C., RUHENSTROTH - BAUER, G.
Humorale Stimulierung der Ausschwemmung
von Granulozyten aus dem Knochenmark
durch die Milz
Klinische Wochenschrift 42, 5 (1964)

17. GROSS, U., MASSHOFF, W., KORZ, R. Die Milz in allgemein-
pathologischer Sicht
Der Internist, 1, 1 (1968)

18. HAUS, E. Endokrines System und Blut
Handbuch der allgemeinen Hämatologie, Bd. 1
Urban & Schwarzenberg
München - Berlin - Wien (1957)

19. HEILMEYER, L. Physiologische Beziehungen zwischen
Milz und Knochenmark
Klinische Wochenschrift, 29, 30 (1955)

20. HITTMAYER, A. Die Physiologie und Pathologie der Milz
Urban & Schwarzenberg
München - Berlin - Wien (1969)

21. HITTMAYER, A. Hyper- und Dyssplenismus
Die Milz
Berlin - Heidelberg - New York
Springer - Verlag (1970)

22. INTROZZI, P., Allgemeine Pathologie der Milz
Handbuch der allgemeinen Hämatologie
Bd. 1
Urban & Schwarzenberg
München - Berlin - Wien (1957)
23. JAEGER, K.H., MITTENZWEI, H. Erzeugung einer Spleno-
megalie bei Kälbern
Klinische Wochenschrift 36, 9 (1958)
24. KAISER, E., RINDT, W. Die Rolle der Milz im endokri-
nen Geschehen
Klinische Wochenschrift 42, 646 (1964)
25. LENNERT, K.A., HARMS, D. Die Milz, The Spleen
Berlin - Heidelberg - New York (1970)
26. PALMER, I.G., EICHWALD, E.J., CARTWRIGHT, G.E.,
WINTROBE, M.M. The Experimental Production of
Splenomegaly, Anemia and Leukopenia in
Albino Rats
Blood 8, 72 (1953)
27. PÉREZ - TAMAYO, R., MORA, I., MONTFORT, I.
Humoral Factors in Experimental
Hypersplenism
Blood 15, 16 (1960)
28. PHARMACIA FINE CHEMICALS
Sephadex - Gelfiltration in Theorie
und Praxis (1969)

29. PÖTTGEN, W. Die moderne Theorie des Hypersplenismus auf der Grundlage zellkinetischer Befunde
Deutsche med. Wochenschrift 29, 1101 (1972)

30. PRIBILLA, W. Über einige Funktionen der Milz
Internist 8, 10 (1967)

31. SACHS, L. Statistische Auswertungsmethoden
Springer - Verlag
Berlin - Heidelberg - New York (1971)

32. SCHLIEPHAKE, E. Sekretorisches System und Krankheitsentstehung
Deutsche med. Wschr. 43, 1325, (1951)

33. TEIR, H., WIKSTRÖM, S. Milz und Granulozytenhaushalt
Die Milz, 317
Berlin - Heidelberg - New York
Springer - Verlag (1970)

34. TEMPKA, T. Physiologie der Milz
Handbuch der allgemeinen Hämatologie
Bd. 1
Urban & Schwarzenberg
München - Berlin - Wien (1957)

35. WOLF, H.J., GERLICH, G. Behandlung von Leukämien mit Milzextrakten
Verh. deutsche Ges. inn. Med.
61. Kongreß (1955)

Herrn Professor Dr. W. Stich sei recht herzlich für die
Arbeitsmöglichkeit an seinem Institut gedankt.

Herrn Dr. M. Schmidt danke ich für die wissenschaftliche
Betreuung und Frau M. Immel für die technische Assistenz
während der Anfertigung dieser Arbeit.

Lebenslauf:

Geboren am 10. 7. 1941 in Brunnersdorf (Sudetenland) als Tochter des Lehrers Albert PENKERT und seiner Ehefrau Irmgard PENKERT.

Besuch der Volksschule in Altfraunhofen bei Landshut (1947-1954).

1957 Ablegung der Mittleren Reife an der Mittelschule in Erding.

1957 - 1960 Besuch der Frauenfachschule in Erding. Weitere Ausbildung zur Hauswirtschaftslehrerin an der Pädagogischen Hochschule in München-Pasing (1960-1961).

1961 Ablegung der I. Lehramtsprüfung.

1963 II. Lehramtsprüfung.

Ausübung des Lehrberufes im Regierungsbezirk Oberbayern (1963-1967).

Während dieser Zeit Besuch des Abendgymnasiums der Stadt München, neusprachliche Abteilung.

Ablegung der Reifeprüfung am Abendgymnasium im Juli 1967.

Beginn des Medizinstudiums im Wintersemester 1967/68 an der Universität München.

Naturwissenschaftliche Vorprüfung nach dem Sommersemester 1968.

Ärztliche Vorprüfung nach dem Sommersemester 1970.

Staatsexamen im Wintersemester 1973/74; Doktor-Prüfung am 22. Januar 1974.

Am 1. 2. 1974 Beginn der ärztlichen Tätigkeit als Medizinal-Assistentin an der I. Medizinischen Klinik in München.

